東京帝國大學理學部紀要
第三類 植物學
第四冊 第四篇

JOURNAL
OF THE
FACULTY OF SCIENCE
IMPERIAL UNIVERSITY OF TOKYO

SECTION III BOTANY

Vol. IV Part 4

TOKYO
Published by the University

September 20, 1934

The "JOURNAL OF THE FACULTY OF SCIENCE" is the continuation of the "JOURNAL OF THE COLLEGE OF SCIENCE" published by this University in forty-five volumes (1887–1925), and is issued in five sections:

Section I.—Mathematics, Astronomy, Physics, Chemistry
Section II.—Geology, Mineralogy, Geography, Seismology
Section III.—Botany
Section IV.—Zoology
Section V.—Anthropology

All communications relating to this JOURNAL should be addressed to the DEAN OF THE FACULTY OF SCIENCE, IMPERIAL UNIVERSITY OF TOKYO.

Zytologische Untersuchungen der Bryophyten I. Die Morphologie der Spermatozoiden einiger Hepaticeen[1]

Von

Tadamasa MIDUNO

Mit 4 Tafeln

Inhaltsverzeichnis

Einleitung

Es sind zwar schon ziemlich viele Beiträge über die Spermatogenese der Bryophyten veröffentlicht worden, doch sind bislang morphologische und physiologische Studien über das reife Spermatozoid sehr selten zu finden.

Die bisher erschienenen Beschreibungen über die Spermatozoiden der Bryophyten bilden in den Untersuchungen über die Spermatogenese derselben nur den Nachtrag. Eine Übersicht über diese bis jetzt herausgegebenen Arbeiten gibt die folgenden Tabelle (Tabelle I).

1) Contributions from the Divisions of Plant-Morphology and of Genetics, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University, No. 131

Zu eingehenderen Forschungen auf den Gebieten der Taxonomie, Genetik und Phylogenie der Pflanzen ist jedoch eine nähere morphologische und physiologische Untersuchung der reifen Spermatozoiden der Bryophyten unentbehrlich. Wie man nun der oben wiedergegebenen Tabelle entnehmen kann, gibt es auf diesem Arbeitsgebiet noch viele Teile, in die die Forschungsarbeit noch nicht eingedrungen ist. Die vorliegende Arbeit ist daher als erster Schritt zur Überwindung der noch ungelösten Aufgaben gedacht. Sie bezieht sich auf die Morphologie der reifen Spermatozoiden der Hepaticeen.

Darstellender Teil

Dumortiera hirsuta, NEES.

Methode und Material

Die Spermatozoiden wurden von im botanischen Garten der kaiserlichen Universität zu Tokio gefundenen Pflanzen gewonnen. Der Thallus wächst auf dem feuchten Boden oder dem Gestein in der Nähe des Wassers. Das kreisförmige Antheridium entsteht auf dem Thallus und hat keinen Stengel wie bei *Conocephalus*. Es reift gewöhnlich im späten Frühling, doch auch im späten Herbst kann man noch Spermatozoiden erhalten. Ein Teil des Thallus wurde vom Boden genommen und etwas davon im Laboratorium sofort untersucht und der Rest nach einigen Tagen. In beiden Fällen wurden Spermatozoiden gewonnen. Das " explosive discharge," das Cavers ('03) schon bei *Conocephalus conicuus* (*Fegatella conica*) beobachtet hat, wurde auch bei *Dumortiera hirsuta* gefunden. Das Phänomen konnte man unter Bestrahlen mit elektrischem Licht durch eine 30% ige Kupfersulfat-Lösung hindurch herbeiführen. Die Höhe der feinen Dusche welche aus dem Antheridium heraussprüht, erreicht ungefähr 15 cm oder mehr. Wenn man diese feine Dusche mit dem Objektträger auffängt und mit Gentianaviolett färbt, so kann man viele gepaarte Spermatozoiden erkennen (Taf. IX, Fig. 5). Entweder wurden die Spermatozoiden lebend oder das mit verschiedenen Färbungsmitteln gefärbte Material beobachtet. Wenn man das Antheridium aus dem Thallus abschneidet, es umgekehrt auf den Objektträger stellt und darauf ein Tröpfchen Leitungswasser hinzufügt, so kommen nach 10–30 Minuten sehr viele Spermatozoiden heraus. Nach Entfernung des Antheridiums, welches schon die Spermatozoiden ejakuliert hatte, wurde das die schwimmenden Spermatozoiden enthaltende Wasser auf der Flamme, im Thermostat, oder an der Luft ausgetrocknet. Im anderen Fall, vor dem Austrocknen des Wassers, wurde der Dampf der Osmiumsäure zur Fixierung gebraucht. Nachher wurden die Spermatozoiden mit den Färbungsmitteln

Tabelle I

				Der Körper				Die Zilie			Das Plasmastück	Der Beobachter
				Form	Länge	Dicke	Umhüllung	Zahl	Länge vordere	Länge hintere		
Hepaticae	Marchantiales	Ricciaceae	*Riccia Frostii*, Aust.	1½ malige Spirale				2			Vorhanden	Black 1913
		Marchantiaceae	Marchantiaceae	1½ malige Spirale			Vorhanden	"			einfach und klar	Campbell 1930
			Marchantia	mehrmalige Spirale			Vorhanden	"				Woodburn 1911
			Conocephalus conicus	stabförmig	13–20 μ			"			Vorhanden	Bolleter 1905
			Astrella hemispherica, Beauv.	keulenförmig				"			Vorhanden	Woodburn 1922
	Jungermanniales	Jungermanniaceae anacrogynae	*Riccardia pinguis* (Type C)	fadenförmig linksdrehend	58 μ	0.75 μ	Vorhanden	2 (eins von zahllosen war 3)	27 μ	30 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
			Riccardia pinguis (Type A)	fadenförmig linksdrehend	77 μ			2	31.7 μ	37 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
			Riccardia multifada (L) S. F. Gray	fadenförmig	56 μ	0.4 μ		"	25 μ	28 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
			Sphaerocarpus Donnelli	stabförmig	18 μ	0.5 μ		"	44 μ	46.5–50.5 μ	Vorhanden	Ricket 1923
			Riccardia (*Aneura*) *pinguis*		88.7 μ			"	35.2 μ		Vorhanden	Clapp 1912
			Makinoa crispata	spiralförmig			Vorhanden	"				Yazawa 1931
			Jungermaniales acrogynae	2 malige Spiral				"	etwas länger als der Körper		Vorhanden klein	Campbell 1930
			Pellia epiphylla	fadenförmig	7.0 μ	0.7 μ		"	29 μ	32 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
			Pellia sp.	fadenförmig	95 μ	0.7 μ		"	35 μ	38 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
			Pellia Neesiana		123 μ	0.9–1 μ		"	47 μ	51 μ		Schowalter 1926
			Pellia Fabroniana Raddi	fadenförmig	60 μ	0.5 μ		"	35 μ	38 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
			Blasia pusilla		58 μ			"				Woodburn 1913
			Fossombronia angulosa (Dicks) Raddi.	fadenförmig	47 μ	0.2 μ		"	27 μ	30 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
		Jungermanniaceae acrogynae	*Plagiochila ardiantioides*	1½–1⅔ malige Spirale				"	⅓ der Körperlänge			Johnson 1929
			Bellincinia (*Porella*)	mehrmalige Spirale				"	etwas länger als der Körper		Vorhanden	Woodburn 1911
Musci	Sphagnales		Sphagnales	2-malige Spirale				"	etwas länger als der Körper			Campbell 1930
			Sphagnum actifolium	2–malige Spirale				"			Vorhanden	Campbell 1887
	Bryales		Bryales	2–malige Spirale	etwas kürzer als Sphagnales.			"	sehr lang und dick			Campbell 1930
			Mnium affine var. *ciliaris* (Grev.) C. M.	fadenförmig				"			Vorhanden	Woodburn 1915
			Polytrichum formosum	spiralig aufgewickeltes Band				"				Walker 1913
			Polytrichum juniperinum	fadenförmig				"			Vorhanden	Allen 1917

	,,			Vorhanden	Woodburn 1922
den	2 (eins von zahllosen war 3)	27 μ	30 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
	2	31.7 μ	37 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
	,,	25 μ	28 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
	,,	44 μ	46.5–50.5 μ	Vorhanden	Ricket 1923
	,,	35.2 μ		Vorhanden	Clapp 1912
den	,,				Yazawa 1931
	,,	etwas länger als der Körper		Vorhanden klein	Campbell 1930
	,,	29 μ	32 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
	,,	35 μ	38 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
	,,	47 μ	51 μ		Schowalter 1926
	,,	35 μ	38 μ	Vorhanden unbeständig	Schowalter 1926
	,,				Woodburn 1913
	,,	27 μ	30 μ	Vorhanden	Schowalter 1926
	,,	$\frac{1}{3}$ der Körperlänge			Johnson 1929
	,,	etwas länger als der Körper		Vorhanden	Woodburn 1911
	,,	etwas länger als der Körper			Campbell 1930
	,,			Vorhanden	Campbell 1887
	,,	sehr lang und dick			Campbell 1930
	,,			Vorhanden	Woodburn 1915
	,,				Walker 1913
	,,			Vorhanden	Allen 1917

Gentianaviolett, Karbolfuchsin, Orange G, Safranin, Methylgrün, Azetokarmin, Anilinblau und Eisen-Hämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Gentianaviolett, Karbolfuchsin, und Hämatoxylin ergaben bessere Erfolge als die anderen Farbstoffe, und vor allem zéigte Gentianaviolett die besten Ergebnisse. Die für die Färbung benötigte Zeit ist bei Gentianaviolett und Karbolfuchsin 10–30 Minuten. Bei der Färbung mit Gentianaviolett findet die Differenzierung gewöhnlich mit Alkohol statt. Bei dieser Untersuchung war es unnötig, das Material zu differenzieren, da in einem Präparat zahlreiche Spermatozoiden nicht einheitlich gefärbt waren und dadurch Spermatozoiden von verschiedenen Färbungsgraden gefunden wurden. Vor der Färbung mit Hämatoxylin wurden die Materialien mit Eisenalaun 2–24 Stunden mazeriert. Die Färbung dauerte 1–3 Tage. Zuletzt wurde das Material mit Balsam eingeschlossen und unter ein Deckglas gelegt.

Bei den vorliegenden Untersuchungen habe ich die gefärbten Spermatozoiden mit Hilfe von Leitz „Makam" in Mikrophotographien aufgenommen, da die Präparate, welche mit Gentianaviolett gefärbt werden, in einigen Monaten verblassen. Für die Mikrophotographien sind die mit Gentianaviolett gefärbten Präparate am besten geeignet.

Zu der Messung brauchte ich folgende Methode: Die Zeichnung wurde mit dem Zeichenapparat nach Abbe gemacht und die Größe derselben mit einem Kurvenmesser, welcher eine Zentimeterskala enthält, gemessen, und danach wurden die mit Zentimeter gemessenen Größen in die ursprüngliche Größe in Mikron umgerechnet. Die Beobachtungen dauerten von September bis Dezember.

Die Morphologie des Spermatozoids

Die Erklärung über das mit Gentianaviolett gefärbte Spermatozoid ist in Taf. IX, Fig. 1 gegeben.

Das Kernstück des Spermatozoids ist sichelförmig und am mittleren Teil etwa 0.97 μ dick. Im lebenden Zustand zeigt es eine einmalige Windung, im fixierten Zustand aber zeigt es keine Spiralwindung mehr, sondern streckt sich meistenteils nach der Sichelform. Vielleicht findet die Streckung beim Austrocknen des Wassers statt. Der Körper färbt sich mit Gentianaviolett und Azetokarmin homogen, und es ist keine Differenzierung zu erkennen, wie schon Schowalter ('26) über *Riccardia pinguis*, Black ('13) über *Riccia* und Campbel ('87) über *Marchantia* erwähnt hatte. Obwohl es in meiner Beobachtung nicht zu erkennen war, ist es doch sehr wahrscheinlich, daß der Körper mit einer dünnen Plasmaschicht umgeben ist, wie Mühldorf ('33) über die *Sphagnum*-Spermatozoiden und Schowalter ('26) über *Riccardia*-Spermato-

zoiden erwähnt haben. Darüber sind weitere eingehende Beobachtungen notwendig. Mühldorf ('30) erwähnt, daß das Kernstück Chromatinsubstanz der Spermatzelle enthält und durch Mazeration sich in viele Chromomeren zerlegen lässt. Ich konnte ebenfalls die Chromomer-artige Substanz von Zeit zu Zeit erkennen, doch nicht genau feststellen, ob die Erscheinung, welche bei dem Färbungsprozess hervorzutreten pflegt, als Chromomer anzusehen ist. Beide, das vordere und hintere Ende des Körpers, sind zugespitzt. Nach dem Durchschnitt der von mir gemessenen zweihundert Spermatozoiden ist die Länge des Kernstücks 15.40 μ, und das längste 18.1 μ. In meinen Präparaten konnte ich einige mißgebildete Spermatozoiden finden (Taf. XI, Fig. 18, Taf. XII, Fig. 19–23). Das in Taf. XII, Fig. 22 gezeigte Spermatozoid mit vier Zilien ist außerordentlich groß. Sein Kernstück ist anderthalbmal so lang wie das gewöhnliche Kernstück. Die Länge des Kernstücks mißt 23.2 μ. In der Beobachtung über die Spermatogenese von *Dumortiera hirsuta* konnte ich einige außerordentlich große Spermatidzellen finden. Vermutlich entsteht das große Spermatozoid aus dieser Spermatidzelle. An der Stammsubstanz dieses großen Spermatozoids, neben den Basalkörnern, sind einige dunkel gefärbte Punkte, welche sich am vorderen Ende des Kernstücks anschließen, in einer Reihe aufgestellt. (Taf. XII, Fig. 22). Diese Punkte sind sehr ähnlich mit dem von Sharp ('20) dargestellten Blephaloplast in der Entwicklung durch Teilung in der Spermatidzelle von *Blasia*. Er äussert sich über die Entwicklung des Blephaloplastes wie folgt: „The blephaloplast now begins to undergo a series of transformations which ultimately result in the formation of cilia bearing thread of the spermatozoid. After elongating very slightly, as previously noted, the blephaloplast becomes constricted (fig. 10, Upper cell). These two portions, or blephaloplast granules as they may be termed, often lie very close together, but in many cases they are so far apart that there can be no doubt that the fission is complete...... The granules continue to multiply by fission (fig. 13.) until several are present in a row (fig. 14, 15.); seven was the largest number counted with certainty." Ich vermute, daß die oben erwähnten Punkte in dem mißgebildeten Spermatozoid mit den „blephaloplast granules" von Sharp identisch sind. Man kann deutlich vier „blephaloplast granules" zählen. Die in Taf. XII, Fig. 21 gezeigten zwei Spermatozoiden sind ein anderer Typus der Mißbildung. Diese Spermatozoiden sind sehr kurz und dick, und das Ende des Kernstücks ist zweifach gegabelt. Taf. XI, Fig. 18 und Taf. XII, Fig. 19 zeigen ebenfalls gabelförmige Spermatozoiden, doch ist die Form der Gabelung etwas verschieden von den oben erwähnten zwei Spermatozoiden. Das Spermatozoid,

welches in Taf. XII, Fig. 20 gezeigt ist, stellt den Zwischentypus des gabelförmigen und des normalen Typus dar. Zwischen zwei Zinken findet man ein tropfenförmiges Plasmastück. In Taf. XII, Fig. 23 sehen wir die äußerst mißgebildete Form der Spermatozoiden. Diese Spermatozoiden haben keine Zilie, und man kann nicht feststellen, welche von den drei Spitzen die vordere Spitze oder hintere ist.

Das Plasmastück haftet gewöhnlich am hinteren Ende des Körpers an. Es ist nach Mühldorfs Bericht ('30) „endständig", doch nicht immer vorhanden. Die bisherigen Verfasser der Spermatogenese der Bryophyten haben auch das Plasmastück erkannt. Die Form, die Größe und die Stellung desselben in Bezug auf das Ende des Kernstücks sind unbeständig. Mühldorf ('30) hat in seiner ausgezeichneten Untersuchung erwähnt, daß das Plasmastück bei allen von ihm bis jetzt untersuchten Lebermoosen von länglicher Form, gleich dick, oder nur wenig dicker als das Kernstück ist und alle Spermatozoiden, die bis jetzt von verschiedenen Autoren mit einem sphärischen tropfenförmigen Plasmastück gekennzeichnet wurden, unreif sind. In *Dumortiera hirsuta* aber ist die Form des Plasmastücks bei dem reifen Spermatozoid von länglicher Form ebenso dick wie das Kernstück oder sphärisch, wie in Taf. XI, Fig. 8 und 9 gezeigt. Wie Taf. IX, Fig. 2 zeigt, ist die Stellung des Plasmastücks unbeständig. Das fadenförmige Plasmastück entsteht meistens nach feinerer Beobachtung nicht von der genauen Spitze des hinteren Endes des Kernstücks, sonderen von einem Punkt aus, der dem vorderen Teile etwas näher ist. Das Plasmastück kann einen anhaftenden Punkt an der konvexen Seite des Kernstücks oder an der konkaven Seite desselben haben (Taf. IX, Fig. 2, A und B). Das längste fadenförmige Plasmastück mißt 17.3 μ (Taf. IX, Fig. 2, C). Beim sphärischen tropfenförmigen Plasmastück entsteht es hängend an der hinteren Spitze des Kernstücks, oder im anderen Falle an dem hinteren Teil desselben anhaftend, wie in Taf. IX, Fig. 2, D zu sehen ist. In manchen Fällen verändert sich die Form, die Größe und die Stellung des Plasmastücks gemäß der Form der hinteren Partie des Kernstücks.

Das Plasmastück färbt sich schwach mit Gentianaviolett, Hämatoxylin und Azetokarmin, und man kann darin einige dunkel gefärbte Punkte erkennen (Taf. IX, Fig. 1, 2). Zwei von diesen Punkten sind deutlich bemerkbar und größer als die anderen. Vielleicht sind diese zwei der „Golgiapparat" und die „Chondriomsubstanz" von Mühldorf ('30) oder die Substanz, die, wie von verschiedenen Autoren erwähnt wurde, bei der Spermatogenese zu erscheinen pflegt, d. h. „limosphere," „accessory body" (Wilson; '11), percnosome (Allen; '17) „Neben-

körper" (Ikeno: '03) „dark body" (Sharp: '20). Die anderen Pünktchen sind Plastiden, Stärkekörner und Chromatinsubstanz. Wenn das Plasmastück nach Campbel ('87), in *Sphagnum actifolium*, mit Jod behandelt wird, färbt es sich schnell dunkelblau, während es mit Kalilauge behandelt sich allmählich auflöst. Das von mir mit Jod behandelte Plasmastück färbte sich nicht so schnell und dunkelblau wie in *Sphagnum*, sondern nur schwach und undeutlich. Das beweist, daß das Plasmastück nur wenige Stärke enthält.

Die Stammsubstanz stösst an das vordere Ende des Kernstücks. (Vermutlich „der zytoplasmatische Fortsatz" von Ikeno ('03)). Sie scheint sehr gebrechlich zu sein, da die Form derselben bei dem Strichpräparat unbeständig ist. Meistens ist die Form, welche in Taf. IX, Fig. 1 gezeichnet ist, gefunden. Die Stammsubstanz färbt sich mit Gentianaviolett, Hämatoxylin, und Karbolfuchsin schwach oder gar nicht. Die Grenzlinie zwischen dem Kernstück und der Stammsubstanz ist meist klar. An der Spitze der Stammsubstanz kann man einen dunkel gefärbten Punkt erkennen, vermutlich die „Spitzensubstanz" von Mühldorf ('30). Ein wenig hinter dieser Spitzensubstanz sind zwei Basalkörner vorhanden, aus welchen die Zilien entstehen. Daß die Zilien aus der Stammsubstanz und nicht aus dem Kernstück entstehen, ist deutlich dadurch, daß die von dem Kernstück getrennte Stammsubstanz, welche von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop zu finden ist, auch mit Zilien versehen ist (Taf. XII, Fig. 19). In den mit Gentianaviolett gefärbten Präparaten kann man selten das Spermatozoid mit außerordentlich langer Stammsubstanz sehen. Das in Taf. XI, Fig. 15 gezeigte ist eins unter ihnen. Bei diesem Spermatozoid kann man die Spitzensubstanz und die Basalkörner ziemlich klar erkennen, da sie von einander etwas entfernt sind.

Die Zilien entstehen von den Basalkörnern, wie schon oben erwähnt ist. Die Zahl der Zilien ist zwei oder vier. Das Verhältnis der Zahl der Spermatozoiden mit zwei Zilien zu der mit vier ist gleich, demgemäß war es nicht zu entscheiden, welches von beiden ursprünglich ist. Ferner habe ich etwa zehn Spermatozoiden mit sechs Zilien (Taf. XI, Fig. 13) und nur ein Spermatozoid mit acht Zilien gefunden (Taf. XI, Fig. 14). Es ist möglich, daß es noch mehrere Spermatozoiden mit sechs und acht Zilien gibt; aber da bei solchen Spermatozoiden sich die Zilien verwirren, ist es unmöglich, eine genaue Anzahl festzustellen. Auch Spermatozoiden mit drei (Taf. XI, Fig. 10) und fünf Zilien (Taf. XI, Fig. 12) konnten gefunden werden. Es ist aber nicht möglich zu unterscheiden, ob sich von vier oder sechs Zilien je eine losgelöst hat, oder ob es die ursprüngliche Zahl ist. Schowalter ('26) hat ein Spermato-

zoid mit drei Zilien bei *Riccardia pinguis* gefunden und erwähnt, daß diese drei Zilien von drei verschiedenen Punkten entstehen, obwohl die Basalkörner (basal body) undeutlich sind. Bei *Dumortiera hirsuta* ist die Stammsubstanz sehr kurz, und es war unmöglich, die Entfernung der Basalkörner, sogar bei dem Spermatozoid mit zwei Zilien klar zu erkennen; demgemäß wurde kein Unterschied zwischen „vorderen“ und “hinteren“ Zilien gemacht. Die Länge der Zilien ist nicht gleich. Der Durchschnitt der von mir gemessenen zweihundert Spermatozoiden zeigt, daß die längere Zilie 44 μ und die kürzere, 37.3 μ lang ist. Die Differenz von 6.7 μ zwischen beiden Zilien, ist zu groß, als daß sie ein Messfehler sein könnte. Beim Spermatozoid mit vier Zilien scheint es, daß je zwei Zilien von jedem Basalkorn aus an beiden Seiten der Stammsubstanz entstehen (Taf. IX, Fig. 1, D und E); demgemäß ist die laufende Richtung in den fixierten und gefärbten Präparaten bei den zwei Zilien, welche aus dem Basalkorn entstehen, meistens gleich, wenigstens bei dem sich dem Basalkorn am nächsten befindenden Teil. Über die Basalkörner des Spermatozoids mit mehr als vier Zilien sind noch weitere genaue Untersuchungen und die Entwicklungsstudien nötig. Das Kernstück des Spermatozoids mit vier Zilien ist in seiner Größe gleich dem Spermatozoid mit zwei Zilien. Die Länge der Zilien aber ist in beiden Fällen verschieden; die Zilien des Spermatozoids mit vier Zilien sind kürzer als die des Spermatozoids mit zwei Zilien. Nach dem Durchschnitt einiger von mir gemessenen Spermatozoiden mit vier Zilien mißt die Zilienlänge derselben 31.7 μ; sie ist um 2.3 μ kürzer als die kürzere Zilie und 5.4 μ kürzer als die längere Zilie des Spermatozoids mit zwei Zilien. Bei Spermatozoiden mit vier Zilien, sind die Zilien meistens verwirrt, und nur wenige Spermatozoiden wurden gefunden, bei welchen ich alle vier Zilien genau messen konnte. Bei dem Spermatozoid mit vier Zilien war es unmöglich, einen Unterschied zwischen längeren und kürzeren Zilien festzustellen. Die Länge der Zilien des Spermatozoids mit sechs Zilien ist durchschnittlich 29 μ; sie ist um 2.7 μ kürzer als die Zilie des Spermatozoids mit vier Zilien. Die Länge jeder Zilie des Spermatozoids mit acht Zilien ist von der längsten Zilie bis zur kürzesten gemessen folgende: 33.5 μ, 31.5 μ, 31.6 μ, 30.8 μ, 28.5 μ, 28.5 μ, 27.4 μ, 24.7 μ. Der Durchschnitt dieser acht Zilien ist etwa 29 μ; also beinahe von gleicher Länge mit den Zilien des Spermatozoids mit sechs Zilien. Bei den Spermatozoiden mit sechs und acht Zilien sind die Basalkörner nicht deutlich zu erkennen; demgemäß ist der Zustand der Entstehung der Zilien von der Stammsubstanz aus auch unklar. Es ist aber anzunehmen, daß wie bei dem Spermatozoid mit zwei und vier Zilien auch Spermatozoiden mit sechs und acht

Zilien, je drei und vier Zilien aus einem etwas längeren Basalkorn, entstehen. Meistens laufen die Zilien der Spermatozoiden mit verschiedener Zilienzahl an der konvexen Seite des Kernstücks entlang, wie in vielen Figuren zu erkennen ist. Dies beweist die Stellung der Basalkörner an der Stammsubstanz und die Richtung der Entstehung der Zilien, wie in Taf. IX, Fig. 1, A, B, C, D, E gezeigt ist. Wie oben erwähnt, ist gemäß der Zahl der Zilien die Länge derselben verschieden, doch steht die Körperlänge in keiner Beziehung zu der Zahl der Zilien und ist immer beständig. Die Zilie ist in ihrem Bau fiberig, was durch Mazeration mit Regaud-Lösung, erwiesen ist, wie Taf. IX, Fig. 3 zeigt. Die Spitze der Zilie gabelt sich meistens in zwei Teile (Taf. IX, Fig. 1, F; Taf. IX, Fig. 16 und 17), und zwischen beiden Zinken kann man einige Plasmasubstanz erkennen. Vielleicht ist die Gabelung der Spitzen der Zilien auf die fiberige Struktur derselben zurückzuführen, da man hin und wieder drei- oder vierfach gegabelte finden kann (Taf. IX, Fig. 1, F (2); Taf. XI, Fig. 17). Bei mit Karbolfuchsin gefärbtem Material kann man die Gabelung deutlich erkennen.

***Marchantia polymorpha*, L.**

Methode und Material

Das Material wurde im botanischen Garten der kaiserlichen Universität zu Tokyo gesammelt. Das Antheridium beginnt im Frühling zu reifen, und man kann es noch im späten Herbst gereift finden. Um die Spermatozoiden zu erhalten, wurde ein Tröpfchen Leitungswasser auf das Antheridium gespritzt. Sogleich, oder nach einigen Sekunden kommen zahllose Spermatozoiden hervor; wie zusammenströmender weißer Rauch, welchen man mit bloßem Auge erkennen kann, und der das Wasser milchig trübt. Eine gallertartige Umhüllung ist an den ausgekommenen Spermatozoiden nicht zu erkennen, und nach wenigen Sekunden oder Minuten beginnen sie lebhaft zu schwimmen. Ein Tröpfchen des jetzt Spermatozoiden enthaltenden Wassers wurde wieder mit dem Sauger von dem Antheridium aufgesaugt und auf den Objektträger oder das Deckglas getropft. Die späteren Behandlungen sowie Färbungsmittel und Färbmethode sind gleich mit den bei *Dumortiera hirsuta* ausgeführten Versuchen.

Die Morphologie des Spermatozoids

Die Erklärung des mit Gentianaviolett gefärbten Spermatozoids ist in Taf. X, Fig. 6 gegeben.

Das Kernstück färbt sich mit Gentianaviolett, Karbolfuchsin und Hämatoxylin homogen. Bei dem fixierten Material ist es fadenförmig; im lebenden Zustand aber spiralförmig. Die Grenzlinie zwischen dem vorderen Ende des

Kernstücks und der Stammsubstanz ist undeutlich. Das hintere Ende des Kernstücks ist nicht zugespitzt sondern zeigt eine gleichsam durchgeschnittene Form. Die Dicke am hinteren Ende ist etwa 0.4 μ, und vom hinteren Ende nach vorn zu wird das Kernstück etwas dünner. Der Durchschnitt der Länge der von mir gemessenen zweihundert Kernstücke ist etwa 14.8 μ.

Das Plasmastück: Von der genauen hinteren Spitze des Kernstücks aus entsteht das Plasmastück; die Form desselben ist meistens beständig, und zwar länglich, gleich dick oder nur wenig dicker als das Kernstück. An dem an das Kernstück stoßenden Ende des Plasmastücks ist eine Vakuole, die wenig dicker ist als das Plasmastück, immer vorhanden. Die Vakuole wird mit den oben erwähnten Färbungsmitteln nur schwach gefärbt, mit Ausnahme der Peripherie (Taf. X, Fig. 6 und Taf. XII, Fig. 26). Man kann einen an die Vakuole anstoßenden dunkel gefärbten Punkt sehr deutlich erkennen. Dieses Körnchen ähnelt der Golgisubstanz, welche über dem reifen Spermatozoid von *Chiloscyphus polyanthus* von Mühldorf ('30) erwähnt wurde. Das Plasmastück wird mit den oben erwähnten Färbungsmitteln nur schwach gefärbt, und es sind viele Körnchen darin zu erkennen. Bei *Marchantia polymorpha* ist die Länge des Plasmastücks beständig und mißt etwa 5.3 μ. Das vordere Ende des Kernstücks schließt an die Stammsubstanz an. Die Grenze zwischen dem Kernstück und der Stammsubstanz ist deutlich. Von den beiden Seiten der Stammsubstanz, nahe dem vorderen Ende, entstehen die beiden Zilien, wie in Taf. X, Fig. 6 gezeigt ist. Die Basalkörner sind nicht klar zu erkennen. Zwischen beiden Zilien wurde ein Unterschied in der Länge nicht gefunden. Sie sind meistens nicht genau von gleicher Länge, aber nicht immer. Der Unterschied in der Länge der beiden Zilien ist zu gering, als daß man ihn für charakteristisch halten könnte; es kann ein Fehler bei der Messung sein. Der Durchschnitt der Zilienlänge der von mir gemessenen zweihundert Spermatozoiden ist etwa 38 μ. Die Spitze der Zilien gabelt sich in zwei Zinken, zwischen beiden ist Plasmasubstanz vorhanden (Taf. X, Fig. 6 und Taf. XII, Fig. 27). In dieser Plasmasubstanz wurde ein dunkel gefärbtes Körnchen erkannt.

Conocephalus conicus, (L.) DUM.

Methode und Material

Das Material wurde im botanischen Garten der kaiserlichen Universität zu Tokyo und in Zimmuzi (Kanagawa-Prefektur) gesammelt. Das Antheridium beginnt im Frühling (April) zu reifen, und im Anfang des Herbsts ist das reife

Antheridium kaum zu finden. Die Methode, die Spermatozoiden zu erhalten, ist ganz gleich der bei *Marchantia polymorpha.* Sogleich oder nach einigen Sekunden oder Minuten nach dem Hinzufügen des Wassers zu dem Antheridium kommen zahllose Spermatozoiden aus. Sie haben keine gallertartige Hülle und beginnen leicht zu schwimmen. Das durch Cavers ('03) angegebene „explosive discharge" wurde konstatiert. Auch Färbungsmethode und -Mittel sind gleich der bei *Marchantia polymorpha.*

Die Morphologie des Spermatozoids

Die Erklärung über das mit Hämatoxylin gefärbte Spermatozoid ist in Taf. X, Fig. 7 gegeben.

Im wesentlichen ist der Bau der Spermatozoiden gleich dem von *Marchantia polymorpha* (Taf. XII, Fig. 24, 25). Das Kernstück ist etwas länger und dicker als das von *Marchantia*; es ist 15.1 μ lang und 0.77 μ dick. Die Grenzlinie zwischen Stammsubstanz und dem vorderen Ende des Kernstück ist nicht klar. Das hintere Ende des Kernstücks ist zugespitzt. Die Form der Stammsubstanz und die Stellung der Basalkörner sind gleich der bei *Marchantia.* Die Zahl der Zilien ist immer zwei, und die Länge derselben ist 34.5 μ. Längere und kürzere Zilien wurden nicht unterschieden. Die Spitze der Zilie ist zweifach gegabelt und bei den mit Hämatoxylin gefärbten Spermatozoiden deutlich zu erkennen (Taf. X, Fig. 7; Taf. XII, Fig. 24, 25). Das Plasmastück am hinteren Ende des Kernstücks ist fadenförmig, gleich dick oder nur wenig dicker als das Kernstück. Es hat seinen anhaftenden Punkt nicht genau an der hinteren Spitze des Kernstücks sondern nahe dem vorderen Ende des Kernstücks und immer an der konkaven Seite desselben. Der Umriß des Plasmastücks ist deutlich gefärbt, mit Ausnahme des Grundteils desselben, wie in Taf. X, Fig. 7 und Taf. XII, Fig. 24 gezeigt ist. Ein dunkel gefärbter Punkt ist an einer bestimmten Stelle und viele dunkel gefärbte Körnchen sind völlig innerhalb des Plasmastücks zu erkennen. Die Länge des Plasmastücks ist ziemlich beständig, nämlich etwa 4 μ.

Conocephalus supradecompositus (LINDB.) ST.

Methode und Material

Diese Art ist in Japan und China anzutreffen. Das Material wurde im botanischen Garten der kaiserlichen Universität zu Tokyo gesammelt. Das Antheridium reift im Frühling, und schon im späten Sommer ist das Spermato-

zoiden enthaltende Antheridium sehr selten. Die Methode, die Spermatozoiden zu erhalten und zu fixieren, die Färbmethode, und die Färbungsmittel sind ganz gleich denen bei *Conocephalus conicus*. Die Kleinheit des Antheridiums macht alle Behandlungen schwer, und man muß die Lupe gebrauchen, um das Auskommen der Spermatozoiden deutlich zu sehen.

Die Morphologie des Spermatozoids

Von dieser Art konnte ich nicht genug Materialien sammeln, folglich war eine eingehende Untersuchung unmöglich. Verfasser beabsichtigt, diese Art weiter zu erforschen und die Ergebnisse später zu veröffentlichen.

Im wesentlichen ist das Spermatozoid von *Conocephalus supradecompositus* ähnlich dem von *Conocephalus conicus*; aber durch die Größe kann man sie unterscheiden. Der Durchschnitt der von mir gemessenen einhundert Spermatozoiden ist wie folgt: das Kernstück ist 13.8 μ lang, und die Zilie 34 μ lang. Die Spitze der Zilie ist zweifach gegabelt. Zwischen den beiden Zinken ist Plasmasubstanz vorhanden. In dieser Plasmasubstanz kann man immer ein oder zwei dunkel gefärbte Punkte finden, wie in Taf. IX, Fig. 4 gezeigt ist. Über den Ursprung und die Bedeutung dieser Punkte ist weitere eingehende Untersuchung nötig.

Diskussion und Schlußbemerkungen

Wie schon in der Einleitung geschrieben, wurde bisher bezüglich der Bryophyten meist keine Untersuchung gemacht, in welcher speziell nur das Spermatozoid untersucht wurde. Wir haben die nachträglichen Beobachtungsergebnisse der Spermatogenese, die in Tabelle I. zusammengestellt sind. In den bisherigen Untersuchungen werden wesentlich folgende Ergebnisse kenntlich gemacht. Nach diesen Beschreibungen ist das Kernstück stabförmig oder fadenförmig; die Größe desselben und die Anzahl der Windungen ist der Art nach verschieden. Das Vorhandensein einer Plasmaschicht, welche den Spermatozoidkörper (Kernstück) umhüllt, ist nicht festgestellt. Nach Woodburn ('11, '13, '15, '22) läuft das Blephaloplast an dem Körper entlang. Die Anzahl der Zilien ist immer zwei, ausgenommen ein Spermatozoid von *Riccardia pinguis*, welches drei Zilien hat (Schowalter '26). Die Zilien entstehen nahe der vorderen Spitze des Körpers, und am Grunde der Zilien findet man die Basalkörner. Die Länge der Zilien variiert von Art zu Art. Häufig, aber nicht immer, haftet das Plasmastück am hinteren Ende des Körpers an. Die Form

des Plasmastück ist unbeständig. Im Plasmastück wurden einige dunkel gefärbte Flecken erkannt, welche mit „limosphere," „accessory body" (Wilson '11), „percnosome" (Allen '17) „Nebenkörper" (Ikeno '03) und noch anderen bei der Spermatogenese vorkommenden Substanzen identisch sind. Genaue Messungen an Spermatozoiden der Bryophyten wurden im Jahre 1926 durch Schowalter ('26) ausgeführt. Die ausgezeichneten Werke von Mühldorf ('30, '30, '31) befassen sich nur mit der Morphologie des reifen Spermatozoids der Bryophyten. Er versuchte bei seinen Untersuchungen, jeder Beeinflussung durch Entwicklungsstudien aus dem Wege zu gehen. Nach seinen Angaben ist „Spitzensubstanz" am Grunde jeder Zilie vorhanden. Durch die Stellung der beiden Basalkörner wurden die Unterschiede zwischen „Vordergeißel" und „Rückengeißel" festgestellt. Die Entfernung der beiden Basalkörner ist ihrer Art nach verschieden. Die Spitze der Zilie ist zweifach gegabelt, und zwischen beiden Zinken ist Plasmasubstanz vorhanden. Die Mazeration beweist, daß die Zilie fiberig gebaut ist. Die schwach färbbare Partie am vorderen Ende des Körpers wurde „Stamm" genannt. Bei den Laubmoosen ist der Stamm im Verhältnis zum ganzen Körper nicht bei allen Arten von gleicher Länge. Das Kernstück (der Körper) gliedert sich nicht bei allen Laubmoosen in gleicher Weise an den Stamm des Bewegungsapparates an. Sonst variiert das Kernstück hinsichtlich seiner Länge und Dicke sehr wenig. Das Plasmastück ist bei den Laubmoosen stets in der Körpermitte angebracht. Endständig ist es nur bei den noch nicht ganz fertigen Spermatozoiden. Sein Aussehen ist bläschenförmig. Im Plasmastück sind Golgisubstanz, Stärkekörner, Chondriomsubstanz und Plastiden vorhanden. Das Kernstück der Lebermoos-Spermatozoiden ist hinsichtlich seiner Länge von Art zu Art außerordentlich verschieden. Dementsprechend ist auch die Anzahl der Windungen, die die Kernspirale beschreibt, wechselnd. Das Plasmastück ist bei allen von Mühldorf bis jetzt untersuchten Lebermoosen von länglicher Form. Das Plasmastück enthält die wichtigsten Plasmakomponenten, die das Spermatozoid bei seiner Bildung aus dem Plasma der Spermatozoiden an sich rafft.

Bei gewöhnlichen Untersuchungen der Spermatozoiden der Hepaticeen werden die Unterschiede unter den verschiedenen Arten nicht erkannt. Genaue Beobachtungen und Messungen derselben aber verweisen darauf, daß die verschiedenen Arten der Hepaticeen beständige Merkmale in ihren Spermatozoiden haben. Die vorliegende Abhandlung befaßt sich mit den vier Arten, welche alle zu den Marchantiales gehören. Bei *Dumortiera hirsuta* ist das Kernstück

sichelförmig und ziemlich dick; beide Enden sind zugespitzt. Das Kernstück von *Marchantia polymorpha* ist stabförmig, und das Ende desselben hat eine gleichsam durchgeschnittene Form und wird vom hinteren nach dem vorderen Ende zu dünner. Die vordere Spitze geht zu der Spitzensubstanz über, wobei eine Grenzlinie zwischen ihnen nicht zu erkennen ist. Das Kernstück von *Conocephalus conicus* ist stabförmig und zeigt einen Zwischentypus zwischen *Dumortiera* und *Marchantia.* Das hintere Ende des Kernstücks ist zugespitzt wie bei *Dumortiera.* Wie bei *Marchantia* dagegen, wird das Kernstück von dem hinteren Ende nach dem vorderen zu dünner, und die vordere Spitze ist nur undeutlich zu erkennen. Bei *Marchantia* und *Conocephalus* ist die Form der Stammsubstanz gleich, bei *Dumortiera* aber ist sie etwas verschieden, wie aus allen Figuren und Photographien hervorgeht. Die Form und Stellung des Plasmastücks von *Dumortiera* ist unbeständig. Es hat seine anhaftende Stelle sowohl an der konkaven, als auch an der konvexen Seite des Kernstücks. Bei *Conocephalus* ist die Form und Stelle des Plasmastücks beständig. Es hat seinen anhaftenden Punkt immer an der konkaven Seite des Kernstücks. Im wesentlichen ist das Plasmastück von *Conocephalus* ähnlich dem von *Dumortiera,* ausgenommen daß seine Form und Stelle beständig ist. Auch in *Marchantia* sind die Form und Stelle des Plasmastücks beständig. Es entsteht immer genau an der Spitze des Kernstücks. Die Form ist verschieden von der von *Dumortiera* und *Concephalus.* An das Ende des Kernstücks stoßend ist eine Vakuole vorhanden. Bei allen Arten wurden ein oder zwei dunkel gefärbte Punkte und viele Körnchen erkannt. Die Zahl der Zilien bei *Marchantia* und *Conocephalus* ist immer zwei. Bei *Dumortiera* ist die Zahl derselben zwei, drei, vier, fünf, sechs, oder acht. In jeder Art gabelt sich die Spitze der Zilien.

Daß bei *Dumortiera hirsuta* die Zahl der Zilien unbeständig ist, erscheint sehr merkwürdig. Wie schon oben erwähnt, wurde ein Spermatozoid mit mehr Zilien als zwei bisher nicht gefunden, ausgenommen von einem durch Schowalter ('26) angegebenen Spermatozoid mit drei Zilien bei *Riccardia pinguis.* Bei *Dumortiera* hat die Anzahl der Spermatozoiden mit zwei und vier Zilien den gleichen Prozentsatz. Dieser Prozentsatz und der Umstand, daß Spermatozoiden mit sechs und acht Zilien gefunden wurden, sind von tiefer Bedeutung, wenn uns der Vermutung Ausdruck zu geben erlaubt wird, daß diese zwei Tatsachen eine Verwandschaft mit den Farnen, welche gleichfalls Spermatozoiden mit vielen Zilien haben, und mit den Bryophyten ergeben, welche gewöhnlich Spermatozoiden mit zwei Zilien haben.

Tabelle II

Art	Körper (Kernstück)					Zilie			Länge / Körper	Plasmastück	
	Form	Länge	Dicke	vorderes Ende	hinteres Ende	Zahl	Länge	Spitze		Form	Länge
Marchantia polymorpha, L.	faden-förmig	14.8 μ	0.4 μ	undeutlich	durch-geschnit-tene Form	2	38 μ	gegabelt	2.5	längliche Form	5.3 μ
Conocephalus conicus, (L.) DUM.	stab-förmig	15.1 μ	0.77 μ	,,	zugespitzt	,,	34.5 μ	,,	2.0	,,	4 μ
Conocephalus supra-decompositus, (LINDB.) ST.	,,	13.8 μ		,,	,,	,,	34.0 μ	,,	2.4		
Dumortiera hirsuta, NEES.	sichel-förmig	15.4 μ	0.97 μ	deutlich — zugespitzt	,,	2, 3, 4, 5, 6, oder 8	44 μ und 37.3 μ	,,	2.6	unbe-ständig länglich od. tropfen-förmig	unbe-ständig

Die oben erwähnten Merkmale der besprochenen Arten werden in der obigen Tabelle II wiedergegeben.

Wenn wir Tabelle I mit Tabelle II vergleichen, können wir finden, daß die Spermatozoiden von Jungermanniales viel größer sind als die von Marchantiales. Folglich windet sich in Jungermanniales das Kernstück zwei oder drei Male, in Marchantiales aber nur ein Mal oder weniger. Dagegen ist die Länge der Zilie fast gleich mit der von Marchantiales. Folglich ist das Verhältnis zwischen der Körperlänge und Zilienlänge bei Marchantiales etwa 2.5, dagegen das bei Jungermanniales 0.6–0.4, d. h. bei Marchantiales ist die Länge der Zilie viel grösser als die des Kernstücks, und bei Jungermanniales ist die Länge der Zilie kürzer als die des Kernstücks. Die Dicke ist auch gleich bei beiden Reihen; demgemäß scheinen die Spermatozoiden von Jungermanniales fadenförmig, dagegen die von Marchantiales meist stabförmig. Das Spermatozoid von Musci hat nach Mühldorf ('30) einige sich vom Spermatozoid der Hepaticeen unterscheidenden Punkte. Das Plasmastück ist bei den Laubmoosen stets in der Körpermitte angebracht, und der Stamm ist länger als bei Lebermoos.

Wie oben erwähnt, können wir gewissermaßen im Spermatozoid die Unterschiede unter den Klassen, der Reihen oder der Gattungen erkennen. Der Verfasser vermutet, daß weitere eingehende Untersuchungen über die pflanzlichen Spermatozoiden noch feinere Strukturen derselben deutlich machen können und einige Beiträge für Phylogenie und Klassifikation ergeben.

Zusammenfassung

Die wichtigsten Ergebnisse vorliegender Beobachtungen über die Morphologie der Spermatozoiden der Hepaticeen lassen sich wie folgt zusammenfassen.

Dumortiera hirsuta, Nees.

(1) Wie bei *Conocephalus conicus*, fand auch in *Dumortiera hirsuta* „explosive discharge" statt.

(2) Das Kernstück ist sichelförmig, und beide Enden desselben sind zugespitzt und deutlich. Das Plasmastück haftet am hinteren Ende des Kernstücks an. Zwei dunkel gefärbte Punkte und viele dunkel gefärbte Körnchen sind im Plasmastück vorhanden. Die Form des Plasmastücks ist unbeständig, d. h. länglich oder tropfenförmig. Die Zilie ist fiberig in ihrem Bau und gabelt sich an ihrer Spitze. Zwischen beiden Zinken, findet man Plasmasubstanz. Die Zahl der Zilien ist zwei, drei, vier, fünf, sechs

oder acht. Etwa 50% von fünfhundert Spermatozoiden haben vier Zilien, und der Rest hat zwei Zilien. Etwa zehn Spermatozoiden mit sechs Zilien und ein Spermatozoid mit acht Zilien wurden in zahllosen Materialien gefunden.

(3) Einige mißgebildete Spermatozoiden wurden gefunden, und zwar mit gabelförmigem Kernstück. Ein Zwischentypus zwischen gewöhnlichem und gabelförmigem Typus wurde auch gefunden. Ein außerordentlich großes Spermatozoid mit vier Zilien war mißgebildet.

Marchantia polymorpha, L.

(4) Das Kernstück ist fadenförmig; des vordere Ende desselben ist undeutlich und das hinteres Ende hat durchgeschnittene Form. Das Plasmastück hat beständige, d. h. längliche Form, und darin wurden eine nicht gefärbte Vakuole, ein dunkel gefärbter Punkt und viele Körnchen erkannt. Die Zilie ist an der Spitze zweifach gegabelt; die Anzahl derselben ist immer zwei.

Conocephalus conicus, DUM.

(5) Das Kernstück ist stabförmig; das vordere Ende desselben ist undeutlich und das hinteres zugespitzt, darin sind ein dunkel gefärbter Punkt und viele Körnchen zu erkennen. Der anhaftende Punkt des Plasmastücks ist immer an der konvexen Seite des Kernstücks. Die Zilien sind an ihrer Spitze gegabelt, und die Anzahl derselben ist immer zwei.

Conocephalus supradecompositus, (LINDB.) ST.

(6) Das Kernstück ist stabförmig. Die Anzahl der Zilien ist zwei.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Dr. Y. Sinotô, nach dessen wohlwollendem Vorschlag ich diese Forschung machte, an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Desgleichen bin ich Herrn Dr. B. Wada, der mir bei dieser Arbeit gütigst behilflich war, und Herrn Prof. Dr. S. Ikeno und Herrn Dr. A. Yuasa, die mir ihre wertvolle Bibliothek freundlichst zu lesen erlaubten, zu großem Danke verpflichtet. Auch den Herren Professoren K. Shibata und T. Nakai möchte ich meinen aufrichtigsten Dank dafür aussprechen, daß sie mir die Veröffentlichung dieser Arbeit erleichtert haben.

März 1933

Genetik-Abteilung, Botanisches Institut, Naturwissenschaftl.
Fakultät d. Universität Tokio

Literatur

ALLEN, C. E., 1917. The spermatogenesis of *Polytrichum juniperinum.* Ann. Bot. **31**: 269–292.

——— 1919. The basis of sex inheritance in *Sphaerocarpus.* Proc. Amer. Phil. Soc. **58**: 289–316.

BELAJEFF, W., 1898. Über die Cilienbildner in den spermatogenen Zellen. Ber. Deut. bot. Ges. **16**: 140–144.

BLACK, C. A., 1913. The morphology of *Riccia Frostii,* Aust. Ann. Bot., **27**: 511–528.

BRADLEY, M. D., 1899. The spore-mother-cell of *Anthoceros.* Bot. Gaz. **28**: 89–109.

BOLLETER, E., 1905. *Fegatella conica* (L.) Corda. Eine morphologisch-physiologische Monographie. Beih. bot. Centralbl. **18**: 327–408.

CAMPBELL, D. H., 1887. Zur Entsicklungsgeschichte der Spermatozoiden. Ber. Deut. bot. Ges. **5**: 120–127.

——— 1930. The structure and development of mosses and ferns. N. Y., 3rd. ed.

CLAPP, G. L., 1912. The life history of *Aneura pinguis.* Bot. Gaz. **65**: 177–192.

CAVERS, F., 1903. Explosive discharge of antherozoids in *Fegatella conica.* Ann. Bot. **17**: 270–274.

——— 1904. On the structure and biology of *Fegatella conica.* Ann. bot. **18**: 87–120.

——— 1911. The interrelationships of the Bryophyta. New Phyt., **10**: 1–46, 84–86.

CHAMBERLAIN, C. J., 1903. Mitosis in *Pellia.* Bot. Gaz. **36**: 28–50.

DUNCAN, S. J., 1929. Development of antheridium and spermatozid in *Plagiochila adiantoides* Lindb. Bot. Gaz. **88**: 38–62.

GAYET, L. A., Recherches sur le developpment de l'archegone chez les Muscinées. Ann. d. Sci. Nat., Bot., 8. ser., **3**: 161–258.

HAUPT, G., 1932. Beiträge zur Zytologie der Gattung *Marchantia* (L.). Zeits. ind. Abst.- und Vererbl. **57**: 367–428.

HERMANN, F., 1897. Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese. Arch. mik. Anat. **50**.

HIRASE, S., 1898. Etudes sur la fécondation et l'embryogenie du *Gingko biloba.* (2. mém.) Jour. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo **12**: 103–149.

IKENO, S. und HIRASE, S., 1897. Spermatozoids in Gymnosperms. Ann. Bot. **11**: 344–345.

IKENO, S., 1898. Untersuchung über die Entwicklung der Geschlechtsorgane und den Vorgang der Befruchtung bei *Cycas revoluta.* Jahrb. wiss. Bot. **32**: 557–602.

——— 1903. Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Spermatogenese: Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha.* Beih. bot. Centralbl. **15**: 65–88.

——— 1904. Blephaloplasten im Pflanzenreich. Biol. Centralbl. **24**: 211–221.

——— 1906. Zur Frage nach der Homologie der Blepharoplasten. Flora. **96**: 538–542.

JAHN, E., 1904. Myxomycetenstudien. III. Kernteilung und Geißelbildung bei den Schwärmern von *Stemonitis flaccida*, Lister. Ber. Deut. Bot. Ges. **22** : 84–9.

JOHNSON, D. S., 1929. Development of antheridium and spermatozoid in *Plagiochila adiantioides* (Lindb.) Swartz. Bot. Gaz. **88** : 38–62.

KARSTEN, G., 1887. Beiträge zur Kenntnis von *Fegatella conica*. Bot. Zeit. **45** : 649–655.

LECLERC du SABLON, 1888. Sur la formation des antherozoides des hepatiques. Compt. rend. d. l'Acad. d. Sci. de Paris **19** : 876.

LIDFORSS, 1905. Über die Reizbewegungen der *Marchantia*-Spermatozoiden. Jahrb. wiss. Bot. **41** : 65–87.

METZNER, P., 1923. Studien über die Bewegungsmechanik der Spermatozoiden. Beitr. allg. Bot. **2** : 435–449.

MIYAKE, K., 1899. *Makinoa* a new genus of Hepaticae. Bot. Mag. (Tokyo) **13** : 21–24.

MÜHLDORF, A., 1930. Berichtigungen und Ergänzungen unserer Kenntnisse über die Morphologie und Histologie pflanzlicher Spermien. Biol. Gen. **6** : 457–482.

——— 1930. Die Stärke in den pflanzlichen Spermien. Bot. Arch. **30** : 167–194.

——— 1930. Über die Blütezeit der Moose und die Gestalt ihrer Spermien. Mikrokosomos **24** : 126–130.

——— 1931. Über feinere Struktur des Bewegungsapparates bei den Lebermoosspermien. Ber. Deut. bot. Ges. **44** : 21–38.

——— 1933. Über die Gestalt und den Bau der Spermien von *Sphagnum*. Beih. bot. Centralbl. **47** : 169–191.

RICKET, H. W., 1923. Fertilization in *Sphaerocarpus*. Ann. Bot. **37** : 225–259.

ROZE, M. E., 1867. Les antherozoides des cryptogames. Ann. Sc. Nat. Bot. **7** : 87–103.

SHARP, W., 1920. Spermatogenesis in *Blasia*. Bot. Gaz. **69** : 258–266.

SCHOTTLANDER, P., 1893. Beiträge zur Kenntnis des Zellkerns und der Sexualzellen bei Kryptogamen. Beitr. Biol. Pflanz. **6** : 267–304.

SCHOWALTER, A. M., 1922. Studies in the morphology of *Riccardia pinguis*. Amer. Jour. Bot. **10** : 148–172.

——— 1926. Studies in the cytology of the Anacrogynae. I. Antherozoids. Ann. Bot. **40** : 691–708.

STRASBURGER, E., 1870. Die Geschlechtsorgane und die Befruchtung bei *Marchantia polymorpha*. Jahrb. wiss. Bot. **7** : 409–421.

——— 1892. Über das Verhalten des Pollens und die Befruchtungsvorgänge bei den Gymnospermen. Schärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoiden und das Wesen der Befruchtung. Jena.

— und KOERNICKE, M. 1923. Botanische Praktikum. Siebente Aufl. Jena.

ULEHLA, V., 1911. Ultramikroskopische Studien über Geißelbewegung. Bot. Central. **31** : 721–731.

WALKER, N., 1913. On abnormal cell-fusion in the archegonium. Ann. Bot. **27** : 115–132.

WILSON, M., 1911. Spermatogenesis in the Bryophyta. Ann. Bot. **25** : 415–457.

WOODBURN, W. L., 1911. Spermatogenesis in certain Hepaticeae. Ann. Bot. **25** : 299-313.

WOODBURN, W. L., 1913. Spermatogenesis in *Blasia pusilla*, L. Ann. Bot. **27**: 93-101.

——— 1915. Spermatogenesis in *Mnium affine*, var. *ciliaris* (Grev.), C. M. Ann. Bot. **29**: 441–456.

——— 1922. Spermatogenesis in *Astrella hemispherica*, Beauv. Ann. Bot. **36**: 535–539.

YASUI, K., 1911. On the life-history of *Salvinia natans*. Ann. Bot. **25**: 469–483.

YAZAWA, H., 1931. On the spermatogenesis in *Makinoa crispata*, (St.) Miyake. Cytologia **2**: 157–173.

Tafelerklärung

Alle Mikrophotographien (Fig. 8-27) wurden mit Hilfe von Leitz „Makam" aufgenommen, und die Vergrößerung derselben ist durchweg 1200, ausgenommen Fig. 20. Gentianaviolett wurde für die Färbung gebraucht. Nur bei Fig. 9. und 10 wurde Karbolfuchsin, und bei Fig. 17 und 18 wurde Hämatoxylin gebraucht.

Taf. IX. Fig. 1. (A) Das mit Gentianaviolett gefärbte reife Spermatozoid von *Dumortiera hirsuta*, NEES. (B) Der vordere Teil des Spermatozoids mit zwei Zilien (von der konkaven Seite des Kernstücks gesehen). (C) Der vordere Teil des Spermatozoids (schräg gesehen). (D) Der vordere Teils des Spermatozoids mit vier Zilien. Je zwei Zilien entstehen von einem Basalkorn. (E) Der vordere Teil des Spermatozoids mit sechs Zilien. Je drei Zilien entstehen von einem Basalkorn. (F) Die Spitze der Zilien. (1) In Taf. XI, Fig. 16, gezeigte Spitze der Zilie. (2) Die in Taf. XI, Fig. 17 gezeigte Spitze der Zilie, welche sich völlig ausbreitet. Zeichenerklärung: B. K., Basalkorn. G. S., Gegabelte Spitze der Zilie. H. S., hintere Spitze des Kernstücks. K. Körnchen. K. S., Kernstück. P. S., Plasamastück. Sp. S., Spitzensubstanz. S. S., Stammsubstanz. V. S., vordere Spitze des Kernstücks. Alle Figuren sind etwas schematisch gezeichnet. (A)-(E), ca. 5000×.

Fig. 2. Die verschiedenen Formen der Plasmastücke (mit Gentianaviolett gefärbt). (A) und (B), Zwei Formen der Plasmastücke von länglicher Form: (A), Anhaftender Punkt des Plasmastücks ist an der konvexen Seite. (B), Der anhaftende Punkt ist an der konvexen Seite. (C), Das Plasmastück am längsten; sein hinteres Ende ist angeschwollen. Man kann darin einige dunkel gefärbte Punkte erkennen. (D) und (E), Zwei Formen der tröpfenförmigen Plasmastücke: (D), Das Plasmastück entsteht an dem hinteren Teil des Kernstücks anhaftend. (E), Das Plasmastück entsteht hängend an der hinteren Spitze des Kernstücks. (ca. 2000×)

Fig. 3. Das mit Gentianaviolett gefärbte Spermatozoid. Eine von zwei Zilien zeigt fiberigen Bau. ca. 2500×.

Fig. 4. Die Spitze der Zilien. Ein oder zwei dunkel gefärbte Punkte in der Plasmasubstanz zwischen der gegabelten Spitze der Zilien sind zu erkennen (mit Gentianaviolett gefärbt).

Fig. 5. Einige Tröpfchen der feinen Dusche bei „explosive discharge." In jedem Tröpfchen, kann man viele gepaarte Spermatozoiden erkennen.

Taf. X. Fig. 6. Das mit Gentianaviolett gefärbte, reife Spermatozoid von *Marchantia polymorpha* (etwas schematisch gezeichnet). An dem an das Kernstück stoßenden Ende des Plasmastücks ist eine Vakuole welche ein Merkmal dieser Art ist, vorhanden. Zeichenerklärung. B. K., Basalkorn. G. S., gegabelte Spitze der Zilie. H. E., hinteres Ende des Kernstücks. K. S., Kernstück. P. S., Plasmastück. S. S., Stammsubstanz. V., Vakuol. V. S., vordere Spitze. ca. 6000×.

Fig. 7. Das mit Hämatoxylin gefärbte, reife Spermatozoid von *Conocephalus conicus* (etwas schematisch gezeichnet). Die allgemeine Form des Spermatozoids ist ähnlich dem Spermatozoid von *Marchantia polymorpha*, die Form des Plasmastücks und des hinteren Ende des Kernstücks jedoch sind ganz anders. Zeichenerklärung: B. K., Basalkorn. G. S., Gegabelte Spitze der Zilie H. S., hintere Spitze des Kernstücks. K., Körnchen. K. S., Kernstück. P. S., Plasmastück. S. S., Stammsubstanz. V. S., vordere Spitze Z., Zilie. ca. 5800×.

Taf. XI. Fig. 8-18. *Dumortiera hirsuta*, NEES.

Fig. 8. Das Spermatozoid mit zwei Zilien und einem tropfenförmigen Plasmastück. Beide Enden des Kernstücks sind zu erkennen, und zwar zugespitzt.

Fig. 9. Das Spermatozoid mit zwei Zilien und einem länglichen Plasmastück. Die Stammsubstanz ist etwas schwach gefärbt.

Fig. 10. Das Spermatozoid mit drei Zilien.

Fig. 11. Das Spermatozoid mit vier Zilien. Die Spitzensubstanz und das Basalkorn sind ziemlich klar zu erkennen.

Fig. 12. Das Spermatozoid mit fünf Zilien.

Fig. 13. Das Spermatozoid mit sechs Zilien.

Fig. 14. Das Spermatozoid mit acht Zilien.

Fig. 15. Das Spermatozoid, welches eine außerordentlich lange Stammsubstanz hat. Bei diesem Spermatozoid kann man die Spitzensubstanz und die Basalkörner klar erkennen, da sie voneinander etwas entfent sind.

Fig. 16. Die gegabelte Spitze der Zilien.

Fig. 17. Die gegabelte Spitze der Zilien. Eine Spitze breitet sich völlig aus, andere aber nur wenig.

Fig. 18. Das zweifach gegabelte Kernstück.

Taf. XII. 19–23. *Dumortiera hirsuta*, NEES.

Fig. 19. Das zweifach gegabelte Kernstück. Die Stammsubstanz, welche vom Kernstück abgetrennt ist, versieht sich mit Zilien.

Fig. 20. Die Zwischentypus des Kernstücks zwischen der normalen und gegabelten Typus derselben.

Fig. 21. Zwei Spermatozoiden mit gegabeltem Kernstück.

Fig. 22. Ein außerordentlich großes Spermatozoid mit vier Zilien. An der Stammsubstanz desselben sind einige dunkel gefärbte Punkte, welche sich am vorderen Ende des Kernstücks anschließen, in einer Reihe aufgestellt. Diese Punkte sind sehr ähnlich mit dem von Sharp ('20) dargestellten Blephaloplast in der Entwicklung durch Teilung in der Spermatidzelle von *Blasia*.

Fig. 23. Äusserste gegabelte Form des Kernstücks.

Fig. 24, 25. *Conocephalus conicus*, (L.) DUM.

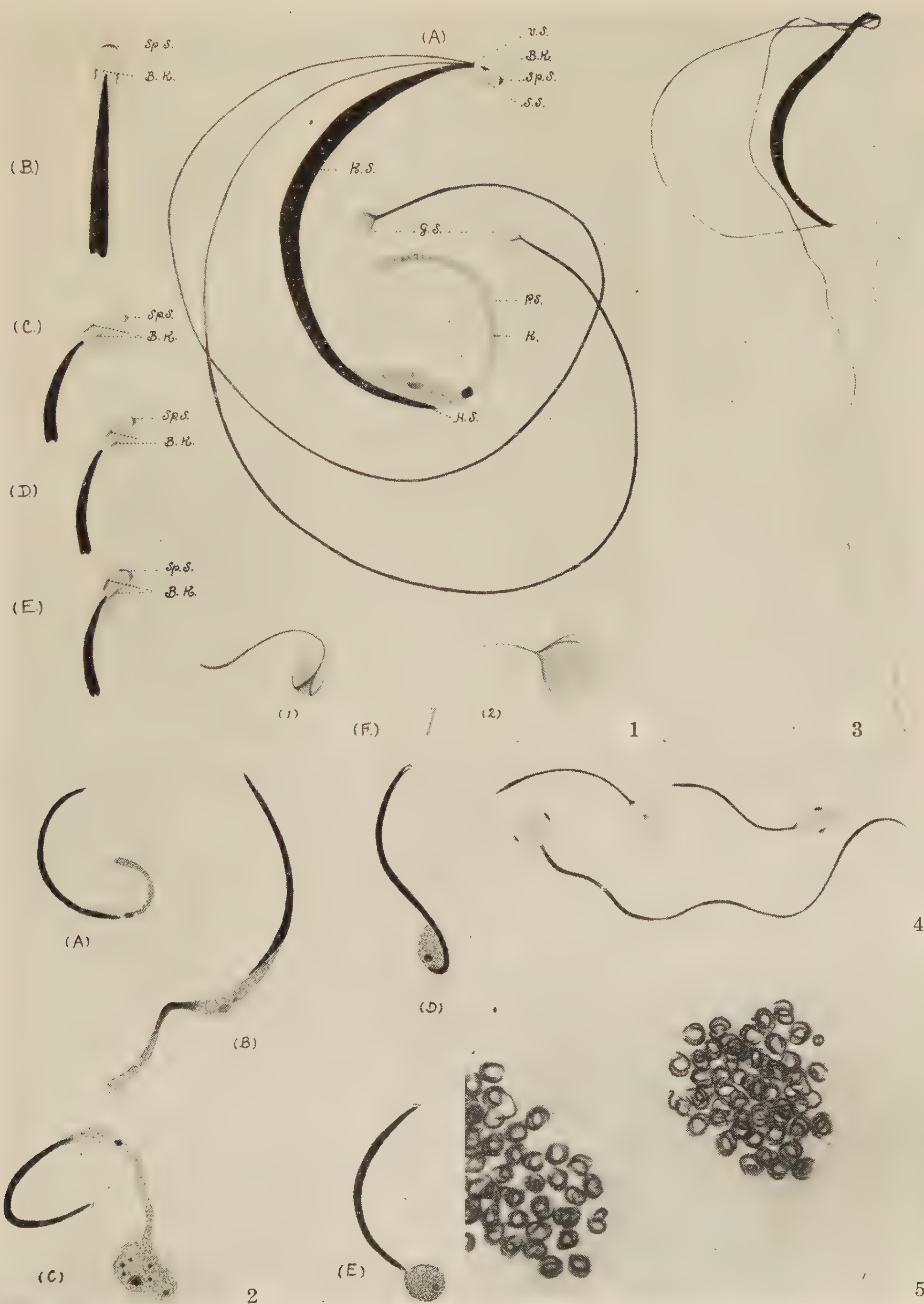
Fig. 24. Das vordere Ende des Kernstücks ist undeutlich, das hintere Ende aber deutlich und zugespitzt. Das Plasmastück hat den anhaftenden Punkt an der konvexen Seite des Kernstücks. Die Peripherie des Plasmastücks ist klar gefärbt mit Ausnahme des Grundteils desselben.

Fig. 25. Die gegabelte Spitze der Zilien.

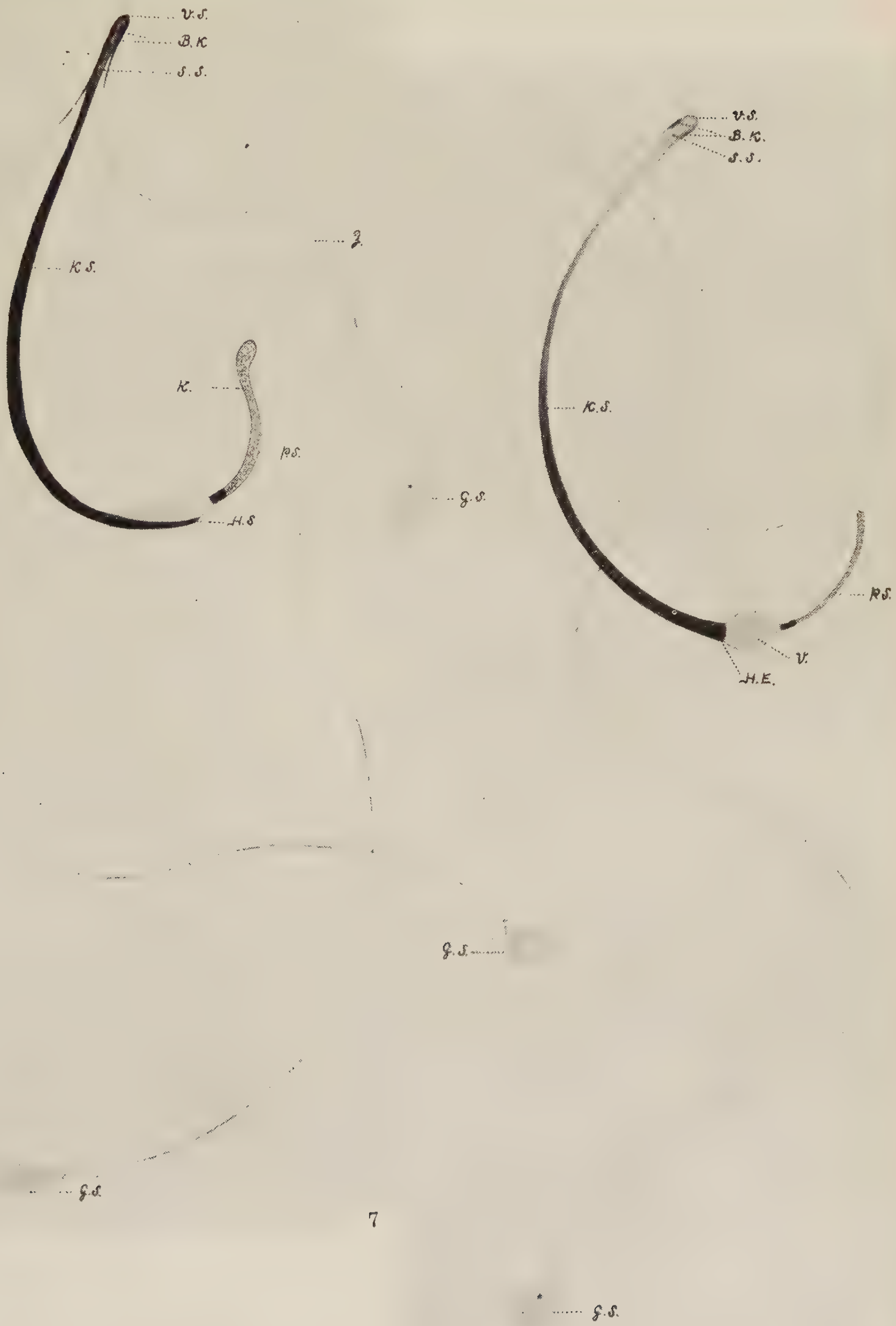
Fig. 26, 27. *Marchantia polymorpha*, L.

Fig. 26. Das Ende des Kernstücks zeigt geschnittene Form. Vakuole und dunkel gefärbter Punkt im Plasmastück sind klar zu erkennen.

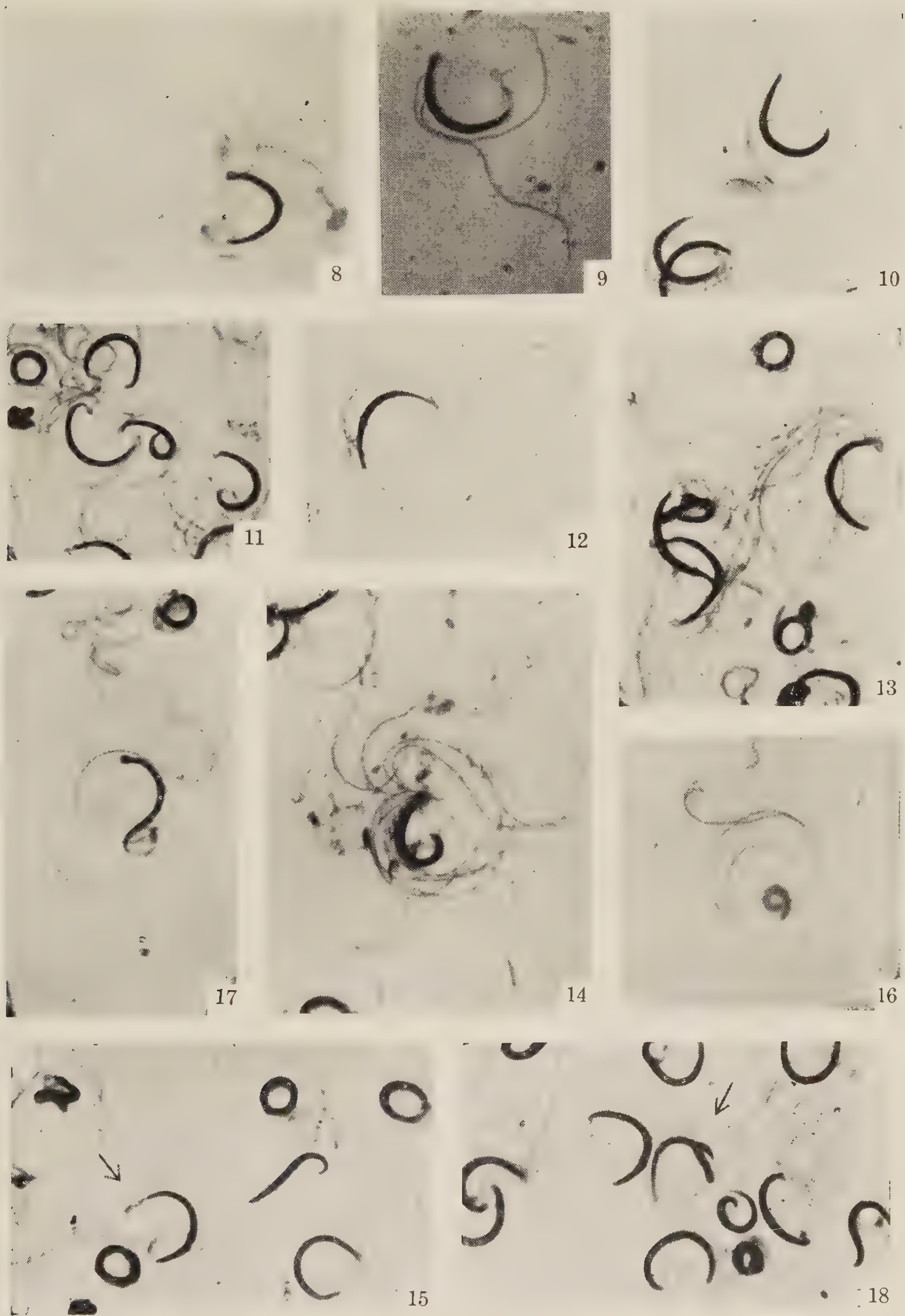
Fig. 27. Die gegabelte Spitze der Zilien.



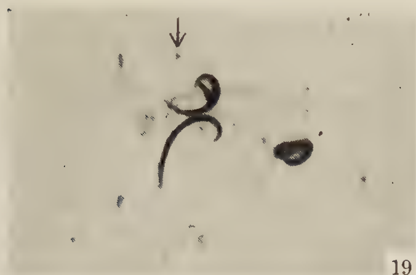
T. MIDUNO, Zytologische Untersuchungen der Bryophyten, I.



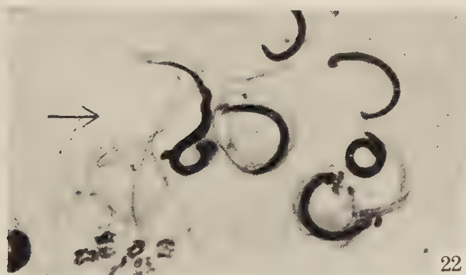
T. MIDUNO, Zytologische Untersuchungen der Bryophyten, I.

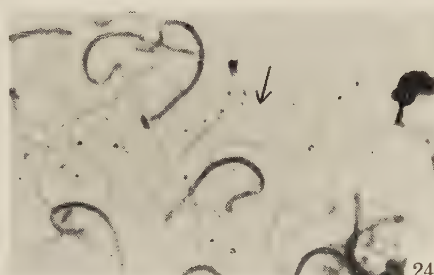


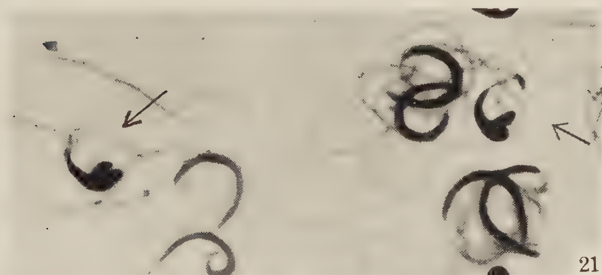
T. MIDUNO, Zytologische Untersuchungen der Bryophyten, I.


19

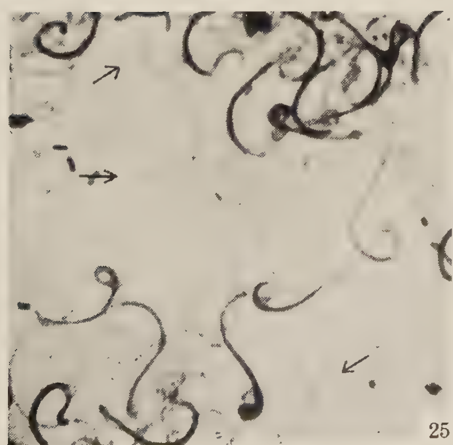

26

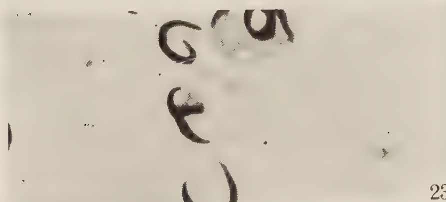

22


24


21


20


25


23


27

T. MIDUNO, Zytologische Untersuchungen der Bryophyten, I.

Studies in the Cytology of Pteridophyta
V. Spermatoteleosis[1] in *Notogramme japonica* PRESL and *Pteris multifida* POIRET with special reference to the development of border-brim, lateral bar and cilia-bearing band[2]

By

Akira YUASA

In 1887 CAMPBELL(3) studied on the spermatogenesis of various plants including *Gymnogramme sulphurea* and *Alsophila nitida,* and in 1893 SCHOTTLÄNDER(5) investigated the nucleus and sexual cells of certain Cryptogams. At that time, though both of these authors reported the development of the spermatozoids, especially in relation to the metamorphosis of the spermatid-nucleus, they did not make clear the structure and formation of the cilia-bearing portion: in other words, they did not settle the question as to the nature of the so-called blepharoplast.

BELAJEFF (1889)(2) observed that in the spermatozoid of *Gymnogramme sulphurea* the "färbbares Körperchen" elongates to form the "färbbarer Faden" which bears many cilia. According to YAMANOUCHI(7), however, the elongating blepharoplast becomes a coiled ribbon-like structure with a tapering end; but this diminution of width of the blepharoplast is compensated for by its coalescing with the tapering anterior portion of the band-shaped nucleus.

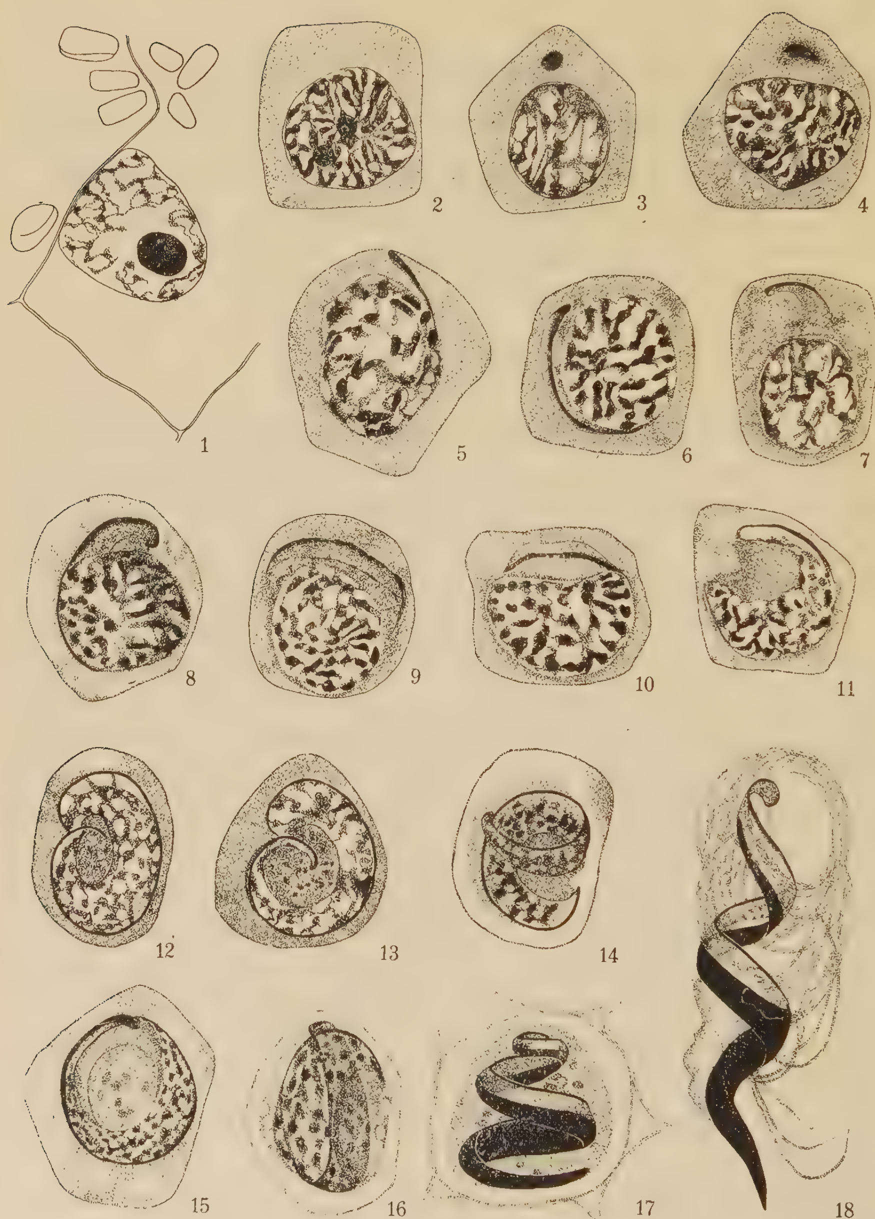
In studying spermatogenesis in *Adiantum capillus-veneris* and *Aspidium falcatum,* ALLEN (1914)(1) stated that the blepharoplast, assuming a band-like structure, elongates along the nucleus which then also tends to form a band-shaped structure, and that the blepharoplast coalesces, at last, with the nucleus, along its full length. But he could not make clear the structure of the cilia-bearing portion.

The writer(8) already reported in 1933 that the fern-spermatozoid, in general, consists of (a) border-brim, (b) lateral bar, (c) nucleus and (d) cilia-

---

1) The term "spermatoteleosis" means the process during which a spermatid is metamorphosed into the spermatozoid.

2) Contributions from the Divisions of Plant-Morphology and of Genetics, Botanical Institute, Faculty of Science, Tokyo Imperial University, No. 132.



The figures (Figs. 1–28) were drawn with the aid of a ZEISS drawing apparatus under a ZEISS ach. obj. 90 N. A. 1.25 in combination with comp. oc. 20. All drawings are reduced to 4/5 in the reproduction giving a magnification of about ×2400.

Figs. 1–16. *Notogramme japonica* PRESL. Fig. 1. Nucleus of a prothallium-cell. Fig. 2. Spermatogenous cell. Fig. 3. Spermatid: spherical blepharoplast is shown. Figs. 4-8. Ble-

bearing band and that the cilia grow from one side of the surface of the cilia-bearing band. He was of opinion that the term "blephoroplast" may be assigned to the portion consisting of border-brim, lateral bar and cilia-bearing band. From this point of view the present study was undertaken in order that the development of these three latter portions might be cleared up. In this paper, however, the relation between centrosomes and blepharoplasts will not be discussed, the only process to be described being that during which spermatids are metamorphosed into spermatozoids.

Materials and Methods

The prothallia were raised from spores collected from two kinds of ferns; *Notogramme japonica* PRESL (Japanese name: Iwaganesô) and *Pteris multifida* POIRET (Japanese name: Inomotosô); these were cultivated in the Koishikawa Botanic Garden of the Tokyo Imperial University.

The prothallia were fixed in chrom-acetic solution (chromic acid 1 gm, glacial acetic acid 3 cc, water 100 cc) or in ALLEN's solution. Sections are cut 5 μ in thickness and stained with HEIDENHAIN's iron-alum haematoxylin. To make total preparations the prothallia having been fixed in CARNOY's fluid (abs. alc. 6, chloroform 3, glacial acetic acid 1) for about thirty minutes, were put on slide, on which drops of iorn aceto-carmine were added, boiled over gas-flame and then sealed with 45% glacial acetic acid and covered.

Descriptions

Notogramme japonica PRESL

The nucleus of the prothallium-cell shows a large nucleolus (Fig. 1) and that of the spermatogenous cell has from two to four small nucleoli (Fig. 2). The nuclei of the spermatids which have resulted from the divisions of the spermatogenous cells show the reticulum among whose meshes many chromatin-clumps are seen.

---

pharoplast elongates into a band-structure; border-brim and cilia-bearing band differenciated. Fig. 9. A portion of border-brim shows beaded appearance. Fig. 10. Crescent-shaped nucleus: blepharoplast continues to elongate along the nucleus. Fig. 11–14. Blepharoplast coalesces with the nucleus, running along the full length of the latter. Fig. 15. Border-brim and cilia-bearing band completed. Fig. 16. Same stage. Side-view. Fig. 17. Mature spermatozoid within the spermatid-membrane. Fig. 18. Spermatozoid stained with iron-alum haematoxylin.

Every spermatid is characterized by the presence of the blepharoplast which has appeared as a small spherical body in the cytoplasm of the spermatid (Fig. 3).

Soon the spherical blepharoplast begins to elongate into a wedge-shaped band (Figs. 4, 5). After this stage one edge of the blepharoplast stains deeply and the remaining portion stains faintly or not at all (Figs. 6, 7). The deeply stained edge is thought to develop into the border-brim when the spermatozoid is completed. The blepharoplast continues to elongate along the surface of the nucleus, but does not come into contact with the latter (Figs. 7–10). The chromatin-clumps in the nucleus become somewhat larger.

Sometimes a part of the deeply stained edge of the blepharoplast shows beaded appearance (Fig. 9).

The nucleus metamorphosed into a crescent shape (Fig. 10) and the band-shaped blepharoplast runs the full length of the convex surface of the metamorphosed nucleus.

As the metamorphosis progresses, the blepharoplast begins to make contact with the nucleus along its whole length, forming a projection beyond the anterior end of the nucleus (Figs. 11, 12).

The nucleus elongates further and takes a spiral shape, the anterior portion of which becomes narrower under the blepharoplast and finally coalesces with the blepharoplast (Figs. 11, 12, 13). The anterior end of the nucleus does not reach that of the blepharoplast, having some distance from the latter. Between the deeply stained edge of the blepharoplast and the anterior tapering part of the nucleus there remains the unstained or faintly stained portion of the blepharoplast; that is the young stage of the cilia-bearing band. The deeply stained edge of the blepharoplast can be traced along the whole length of the spiral band-shaped nucleus (Figs. 13, 14, 15, 16) and is designated the border-brim.

The edge of the anterior end of the blepharoplast has already become capable of being stained and is designated the lateral bar (Fig. 15).

When the spermatozoid is in a mature stage, between the border-brim and the band-shaped nucleus the unstained or faintly stained portion of the blepharoplast can be seen along the whole length of the spermatozoid-body (Fig. 17). This unstained or faintly stained portion is the cilia-bearing band, about two anterior coils of which bear cilia. The posterior portion of the cilia-bearing band, being almost fused with the nucleus, can be discerned only with difficulty, but the border-brim can be seen clearly (Fig. 17).

The nuclear membrane is very delicate and requires keen observation to discern it. The spermatid-membranes are also thin and when the spermatozoids have matured the spermatids become free of each other, separating at their corners (Fig. 17).

The development of cilia has not been cleared up in this study, though they are suppposed to have first appeared in the stage shown in Fig. 15.

Mature spermatozoids have on the average 2.5–3 right-handed coils (Fig. 18). Cilia grow from one side of the surface of about two of the anterior coils of the cilia-bearing band. The border-brim and the cilia-bearing band occupy the whole length of the spermatozoid and appear almost to be fused with the nucleus as they approach their ends. The nucleus does not reach the anterior end of the body so that the anterior portion of the spermatozoid is composed of three elements, viz. the cilia-bearing band which bears cilia, the border-brim and the lateral bar. The length of an extended spermatozoid is ca. 50 μ.

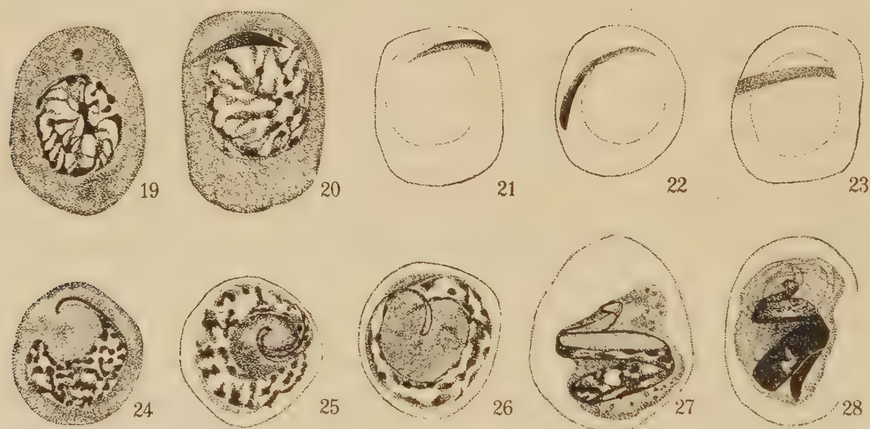
When stained with aceto-carmine the nucleus of the spermatid is filled with large chromatin-granules. The spherical blepharoplast can not be seen in the spermatid. After having elongated in band-shape, the blepharoplast can be stained faintly, and appears as a long rod. This long rod corresponds to the border-brim which has swollen to some extent. The portion which corresponds to the cilia-bearing band can be seen at all. The nucleus now begins to show a spiral form and a band-shaped structure, along whose surface the border-brim can be seen as a thread-like body. In the nucleus the chromatin-granules are found to be densely crowded. Soon the thread-like blepharoplast coalesces entirely with the nucleus and the latter continues to elongate more and more into spiral band. When the coiled form of the spermatozoid is established the border-brim is seen as a narrow thread along the edge of the coil and in the mature spermatozoid the border-brim and the cilia-bearing band can be easily discerned. Though the cilia are difficult to observe when the spermatozoid is still in its spermatid-membrane, they are clearly seen after the spermatozoid has become free from its spermatid-membrane.

Pteris multifida POIRET

The process of spermatoteleosis is almost the same as that of the case in *Notogramme japonica* PRESL, so the detailed description will be omitted here.

The spherical blepharoblast as shown in Fig. 19 elongates into a band-shape without touching the nucleus (Figs. 21–23). After this stage, one edge

of the blepharoplast stains deeply and shows the earlier stage of the border-brim (Figs. 21, 22). After the nucleus has become crescent-shaped the blepharoplast coalesces with the nucleus forming a beak beyond the anterior portion of the nucleus (Fig. 24). Then the nucleus forms an anterior tapering projection under the blepharoplast, reaching the anterior end of the latter (Fig. 25, 26). In the case of *Pteris multifida* POIRET the deeply stained edge of the blepharoplast, namely the border-brim, can not be traced along the whole length of the nucleus, but only along the 2/3 of the anterior portion of the spermatozoid-body. Between the border-brim and the nucleus there remains the cilia-bearing



Figs. 19–28. *Pteris multifida* POIRET. Fig. 19. Spermatid having the spherical blepharoplast. Fig. 20. Wedge-shaped blepharoplast. Fig. 21–23. Band-shaped blepharoplast: border-brim differentiated. Fig. 24. Spermatid-nucleus begins to coil; blepharoplast is attached at the anterior portion of the nucleus. Fig. 25 and 26. Blepharoplast coalesces entirely with the nucleus. Fig. 27. Almost mature spermatozoid within the spermatid-membrane. Fig. 28. Mature spermatozoid within the spermatid-membrane.

band which occupies about 2/3 of the anterior portion of the spermatozoid-body.

In the nucleus of the spermatozoid which is almost in maturity the chromatin-clumps are seen scattering sparsely as shown in Fig. 27. In the mature spermatozoid the cilia are seen growing from the one side of the surface of the cilia-bearing band (Fig. 28). The nucleus staines almost homogeneously with iron-alum haematoxylin. Every mature spermatozoid in the antheridium is seen enveloped by its delicate spermatid-membrane as shown in Fig. 28.

Discussion

In 1898 BELAJEFF(2) observed in spermatogenesis in *Gymnogramme sulphurea* and *Equisetum arvense* that the "färbbares Körperchen" extends into the "färbbarer Faden" and that the "färbbarer Faden" lies parallel to the nucleus without touching the latter when spermatozoid is in maturity. He also reported that the cilia grew from the "färbbarer Faden." In 1907 CAMPBELL(4) stated in *Ophioglossum* that the anterior portion of the nuclear coil changes into a cytoplasmic one which seems to be a flattened band and along whose upper edge the blepharoplast is closely attached. SHARP (1912)(6) also reported in *Equisetum arvense* that the nucleus lies parallel to the blepharoplast which bears cilia. According to all of the above-mentioned authors the blepharoplast is a thread-like body and does not come into close contact with the nucleus.

In 1908, however, YAMANOUCHI(7) reported in *Nephrodium molle* that "the elongating blepharoplast now takes a spiral direction and has a tendency to form a coiled ribbon-like structure" (p. 154) and that "this band [nuclear band] becomes more and more narrow, with a gradual elimination of its width, but this diminution is compensated for by a coalescence with the tapering end of the band-shaped blepharoplast" (p. 155).

The writer(8) in his study of fern-spermatozoid confirmed the fact that the cilia grow from one side of the surface of the cilia-bearing band and that the upper edge of the cilia-bearing band is occupied by the border-brim which corresponds to the "färbbarer Faden" of BELAJEFF(2) and the blepharoplast of SHARP(6).

As stated in the present description the so-called blepharoplast at first took a wedge-shaped form as shown in *Nephrodium* by YAMANOUCHI(7), and then extended into the band-shape as ALLEN (1912)(1) observed in the case of *Adiantum capillus-veneris* and *Aspidium falcatum*. One edge of the blepharoplast stains deeply and develops into the border-brim. The remaining portion of the blepharoplast coalesces with the nucleus, but the unstained or faintly stained portion remains between the border-brim and the nucleus. This is the cilia-bearing band, about two anterior coils of which bear cilia. In *Notogramme japonica* PRESL the blepharoplast after having extended into a band-shape, runs along the convex surface of the whole length of the nucleus which has begun to extend into a spiral shape. ALLEN(1) also stated in the case of *Adiantum capillus-veneris* and *Aspidium falcatum* that the blepharoblast runs the whole length of the nuclear spiral. In the mature spermatozoid of *Notogramme japonica* PRESL the border-brim and the cilia-bearing band can be traced along the whole length of the nucleus.

ALLEN[1] stated in the case of *Aspidium falcatum* that "the nuclear projection lies in contact with the middle portion of the blepharoplast." In the writer's case the nuclear beak also projects along the under-surface of the blepharoplast and coalesces with it. In *Notogramme japonica* PRESL the nuclear beak does not reach the anterior end of the blepharoplast, retreating some distance from it. In the case of *Pteris multifida* POIRET, however, the nuclear beak reaches the anterior end of the blepharoplast.

In the nucleus of the spermatozoid when almost in maturity large chromatin-clumps are seen scattered sparsely, but in the full matured spermatozoid the nucleus stains almost homogeneously with iron-alum haematoxylin. When stained with aceto-carmine, however, the chromatin-granules can be discerned in the nucleus of the mature spermatozoid.

Though the cilia-bearing band and the cilia are differentiated from the blepharoplast, they seem to be of cytoplasmic nature, judging from their staining reactions. It is thought that the cilia-bearing band represents the compact cytoplasmic portion which characterizes a spermatozoid as a newly formed motor cell and that the cilia confers the moving capacity on a spermatozoid. Therefore *the blepharoplast is an organ which may furnish a spermatozoid with newly formed cytoplasm and cilia.*

Summary

In *Notogramme japonica* PRESL and *Pteris multifida* POIRET the differentiation of the border-brim, the lateral bar and the cilia-bearing band occurs at the stage when the blepharoplast extends into a band-shape and comes into contact with the nucleus. Accordingly the so-called blepharoblast is thought to be made up of three portions, designated the border-brim, the lateral bar and the cilia-bearing band which in turn develops cilia. It is suggested that the blepharoplast is an organ which may furnish a spermatozoid with newly formed cytoplasm and cilia which enable a spermatozoid to move.

The writer has to thank Dr. SINOTÔ for his valuable suggestions and criticism during the course of this work. Thanks are also due to Prof. Shibata and Prof. Nakai for facilitating the publication of this paper.

December 1933

Division of Genetics,
Botanical Institute, Faculty of Science,
Tokyo Imperial University

Literature

(1) ALLEN, R. F., 1914. Studies in spermatogenesis and apogamy in ferns. Trans. Wisc. Acad. Sci., Arts and Letters **17**: 1–56.

(2) BELAJEFF, W., 1898. Über die Cilienbildner in den spermatogenen Zellen. Ber. d. Deut. bot. Gesells. **16**: 140-144.

(3) CAMPBELL, D. H., 1887. Zur Entwicklungsgeschichte der Spermatozoiden. ib. **5**: 120–127.

(4) ———— 1907. Studies on the Ophioglossaceae. Ann. d. Jard. bot. d. Buitenzorg **2**: 138–194.

(5) SCHOTTLÄNDER, P., 1893. Beiträge zur Kenntnis des Zellkernes und der Sexualzellen bei Kryptogamen. Cohn Beit. z. Biol. d. Pfl. **6**: 267–304.

(6) SHARP, L. W., 1912. Spermatogenesis in *Equisetum.* Bot. Gaz. **54**: 89–119.

(7) YAMANOUCHI, S., 1908. Spermatogenesis, oogenesis, and fertilization in *Nephrodium.* ib. **45**: 145–175.

(8) YUASA, A., 1933. Studies in the cytology of Pteridophyta. II. The morphology of spermatozoids of some ferns. Cytologia **3**: 305–337.

JOURNAL OF THE FACULTY OF SCIENCE
IMPERIAL UNIVERSITY OF TOKYO

SECTION I. MATHEMATICS, ASTRONOMY, PHYSICS, CHEMISTRY
SECTION II. GEOLOGY, MINERALOGY, GEOGRAPHY, SEISMOLOGY
SECTION III. BOTANY

Vol. I, Completed (1925–1928).
„ Part 1. Y. Yoshii, Über die Reifungsvorgänge des Pharbitis-Samens mit besonderer Rücksicht auf die Keimungsfähigkeit des unreifen Samens. Price ¥ 2.65
„ Part 2. Y. Ogura, Comparative Anatomy of Japanese Cyatheaceae. Price ¥ 3.80
„ Part 3. Y. Ogura, On the Structure and Affinities of Some Fossil Tree-Ferns from Japan. Price ¥ 1.30
„ Part 4. K. Yasui, Studies on the Structure of Lignite, Brown Coal, and Bituminous Coal in Japan. Price ¥ 2.70

Vol. II, Completed (1927–1932).
„ Part 1. G. Yamaha, Experimentelle zytologische Beiträge. I. Mitteilung. Orientierungsversuche an den Wurzelspitzen einiger Pflanzen. Price ¥ 4.60
„ Part 2. G. Yamaha, Experimentelle zytologische Beiträge. II. Mitteilung. Über die Wirkung des destillierten Wassers auf die Wurzelspitzenzellen von *Vicia Faba* bei verschiedenen Temperaturen. Price ¥ 1.60
„ Part 3. M. Kumazawa, Studies on the Structure of Japanese Species of *Ranunculus*. Price ¥ 1.00
„ Part 4. M. Kumazawa, Morphology and Biology of *Glaucidium palmatum* Sieb. et Zucc. with Notes on Affinities to the Allied Genera *Hydrastis*, *Podophyllum* and *Diphylleia*. Price ¥ 0.60
„ Part 5. Y. Ogura, On the Structure and Affinities of Some Cretaceous Plants from Hokkaido. Price ¥ 0.80
„ Part 6. M. Kumazawa, Morphological Studies of *Anemonopsis*, *Actaea* and *Cimicifuga*. Price ¥ 0.70
„ Part 7. Y. Ogura, On the Structure and Affinities of Some Cretaceous Plants from Hokkaido. Second Contribution. Price ¥ 0.70

Vol. III, Completed (1930–1931).
„ Part 1. M. Honda, Monographia Poacearum Japonicarum, Bambusoideis exclusis. Price ¥ 7.00
„ Part 2. Y. Satake, Systematic and Anatomical Studies on Some Japanese Plants, I. Price ¥ 0.50

Vol. IV, Incompleted (1932–).
„ Part 1. K. Ohki, On the Systematic Importance of Spodograms in the Leaves of the Japanese Bambusaceae. Price ¥ 1.70
„ Part 2. Y. Satake, Systematic and Anatomical Studies on Some Japanese Plants, II. (JUNCACEAE). Price ¥ 1.80
„ Part 3. S. Watari, Anatomical Studies on Some Leguminous Leaves, with Special Reference to the Vascular System in Petioles and Rachises. Price ¥ 2.90
„ Part 4. T. Miduno, Zytologische Untersuchungen der Bryophyten, I. Die Morphologie der Spermatozoiden einiger Hepaticeen.
A. Yuasa, Studies in the Cytology of Pteridophyta, V. Spermatoteleosis in *Notogramme japonica* PRESL and *Pteris multifida* POIRET with special reference to the development of border-brim, lateral bar and cilia-bearing band. Price ¥ 0.90

SECTION IV. ZOOLOGY
SECTION V. ANTHROPOLOGY

CONTENTS

This JOURNAL is on sale at

MARUZEN CO., LTD.
6, Nihonbashi Tori-Nichome, Tokyo

R. FRIEDLÄNDER & SOHN
Karlstr. 11, Berlin, N. W. 6

Price in Tokyo: Yen 0.90 for this Part

昭和九年九月十六日印刷
昭和九年九月二十日發行

編纂兼發行者　東京帝國大學

東京市麴町區内幸町一丁目四番地
印刷者　秋本宗市

東京市麴町區内幸町一丁目四番地
印刷所　株式會社ヘラルド社印刷部

東京市日本橋區通二丁目六番地
賣捌所　丸善株式會社